

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-29467

(43) 公開日 平成11年(1999) 2月2日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I	
A 6 1 K 31/19	ADA	A 6 1 K 31/19	ADA
7/00		7/00	U
	AED		AEDW
7/48		7/48	
// A 6 1 K 7/035		7/035	

審査請求 未請求 請求項の数 2 FD (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平9-199323

(22) 出願日 平成9年(1997) 7月9日

(71) 出願人 000001959

株式会社資生堂

東京都中央区銀座7丁目5番5号

(72) 発明者 大田 正弘

神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第一リサーチセンター内

(72) 発明者 吉田 雄三

神奈川県横浜市港北区新羽町1050番地 株
式会社資生堂第一リサーチセンター内

(74) 代理人 弁理士 館野 千恵子

(54) 【発明の名称】 プロテアーゼ阻害剤

(57) 【要約】

【課題】 優れたプロテアーゼ阻害作用を有し、種々の皮膚疾患、肌荒れ、荒れ性等の改善に優れた効果を有するプロテアーゼ阻害剤を提供する。

【解決手段】 ウルソール酸 (Ursolic acid) またはその塩を有効成分として配合する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ウルソール酸 (Ursolic acid) またはその塩を有効成分とすることを特徴とするプロテアーゼ阻害剤。

【請求項 2】 ウルソール酸 (Ursolic acid) またはその塩の配合量が 0.005~20.0 重量%である請求項 1 記載のプロテアーゼ阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明はプロテアーゼ阻害剤に関し、さらに詳しくは、患部においてプロテアーゼの活性変化が認められる接触性皮膚炎、乾癬、尋常性天疱瘡、先天性水疱瘡等の種々の皮膚疾患の他、乾燥や洗浄剤等によって惹起される肌荒れ、荒れ性の改善・予防、および止血剤としても利用可能なセリンプロテアーゼ阻害活性を有するプロテアーゼ阻害剤に関する。

【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】 従来より、皮膚疾患や肌荒れに対して改善・予防効果を有するものとして種々の治療薬、皮膚外用剤、化粧品等が知られている。これら従来の薬剤や化粧品等における有効成分としては、抗炎症作用を有する、あるいは保湿効果の高いアミノ酸や、多糖、脂質、抽出エキス等が皮膚の炎症や角質層の水分の消失を防ぐ能力に優れているために用いられてきた。しかしながらいづれにおいてもその肌荒れ改善・予防効果は必ずしもすべての事例において十分であるとは限らず、疾患の原因に応じてより優れた薬効剤の開発が期待されていた。

【0003】 一方、近年種々の皮膚疾患の病像形成にはプロテアーゼが関与していることが明らかにされつつある。例えば炎症性異常角化性疾患の代表である乾癬では、その患部表皮において高いプラスミノゲンアクチベーター (Plasminogen activator: PA) 活性が認められている。PA はセリンプロテアーゼの一つであるが、Hausteine は、乾癬表皮の特に錯角化部位に強い PA 活性が存在することを報告し (Arch. Klin. Exp. Dermatol.; 234, 1969)、Fraki と Hopsu-Havu は、乾癬鱗屑から高濃度の塩溶液を用いて PA を抽出した (Arch. Dermatol. Res.; 256, 1976)。また、尋常性天疱瘡においては、表皮細胞内で多量に合成された PA が、細胞外に存在するプラスミノゲン (plasminogen) をプラスミン (plasmin) に転換し、これが細胞間結合物質を消化することにより細胞間に組織液が貯留して表皮内水疱が形成されることが、インビトロ (in vitro) の実験系において明らかにされている (Morioka S. et al.; J. Invest. Dermatol.; 76, 1981)。

【0004】 またプロテアーゼは、角質層形成など表皮の正常な角化過程においても重要な役割を果たしていると考えられており (Ogawa H., Yoshiike T.; Int. J. Dermatol.; 23, 1984)、肌改善あるいは皮膚疾患の治療薬とし

て、プロテアーゼ阻害剤を用いる試みがなされるようになってきている。

【0005】

【課題を解決するための手段】 上述のような現況に鑑み、本発明者らはプロテアーゼに起因する種々の皮膚疾患、肌荒れ、荒れ性等の改善・予防に有効なプロテアーゼ阻害物質を得るべく、広く種々の物質についてプロテアーゼ阻害活性を調べた結果、ウルソール酸 (Ursolic acid) がプロテアーゼ阻害活性を有していることを見出し、これに基づき本発明を完成するに至った。

【0006】 すなわち本発明は、ウルソール酸 (Ursolic acid) またはその塩を有効成分とすることを特徴とするプロテアーゼ阻害剤である。

【0007】 ウルソール酸 (Ursolic acid) については、特開平 5-286835 号公報によると女貞子から抽出される成分として養毛化粧品として知られ、特開昭 62-93215 号公報によるとレダクターゼ活性の阻害による優れた養毛効果が知られている。また特開平 2-17121 号公報では、皮膚上皮細胞のガン化を予防するのに有用な安全性の高い外用剤として、また特開昭 58-57307 号公報では、皮膚の黒化を効果的に防止し、かつ変色、変臭、分解失活等の経時変化を起こさない安定な美白化粧品として用いることが知られている。さらには口腔用組成物として知られ、特開平 1-290619 号公報によると抗う蝕性効果を示すことが公表され、特開昭 61-36213 号公報によるとストレプトコッカスミュウタンス (S. Mutans) に対し特異的抗菌作用を示し、う蝕予防に有効であることが知られている。しかしながら、ウルソール酸 (Ursolic acid) 類のプロテアーゼ阻害作用に関する報告はこれまでになく、今回はじめて見いだされたものである。

【0008】 以下、本発明について詳述する。本発明に用いられるウルソール酸 (Ursolic acid) は公知の物質であり、ウワウルシの葉、実に、またカキ、サンザシ、タイソウ等にも含まれる。また、市販品としては、和光純薬工業株式会社、東京化成工業株式会社、シグマ・アルドリッチ社等から販売されており、容易に入手することができる。

【0009】 更に本発明のウルソール酸 (Ursolic acid) は、所望によりナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩、マグネシウム塩、カルシウム塩等の無機塩、あるいはモノエタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン等の有機塩の形で用いることもできる。

【0010】 本発明のプロテアーゼ阻害剤は主として外用剤として用いられ、その場合のウルソール酸またはその塩の配合量は、外用剤全量中乾燥物として 0.005~20.0 重量%、好ましくは 0.01~10.0 重量%である。0.005 重量%未満であると、本発明でいう効果が十分に発揮されず、20.0 重量%を超えると

製剤化が難しいので好ましくない。また、10.0重量%以上配合してもさほど大きな効果の向上はみられない。

【0011】本発明において、プロテアーゼ阻害剤のプロテアーゼとは、ペプチド結合の加水分解を触媒する酵素の総称であり、このプロテアーゼはペプチダーゼおよびプロテイナーゼに分類される。前者はペプチド鎖のアミノ基末端やカルボキシル基末端の外側より、ペプチド結合を切り離していく酵素で、後者はペプチド鎖内部の特定の結合を切断する酵素である。後者のプロテイナーゼは、その活性触媒基の種類により、さらにセリン系、システイン系、アスパラギン酸系、金属系の4つに大別され、それぞれに特異的な阻害剤が存在している。本発明におけるプロテアーゼ阻害剤とは、このうちの特にセリンプロテアーゼに対して阻害活性を示すことを特徴としている。

【0012】本発明のプロテアーゼ阻害剤には、上記必須成分以外に、通常化粧品や医薬品等の皮膚外用剤に用いられる成分、例えば、美白剤、保湿剤、酸化防止剤、油性成分、紫外線吸収剤、界面活性剤、増粘剤、アルコール類、粉末成分、色材、水性成分、水、各種皮膚栄養剤等を必要に応じて適宜配合することができる。

【0013】その他、エデト酸二ナトリウム、エデト酸三ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ポリリン酸ナトリウム、メタリン酸ナトリウム、グルコン酸等の金属封鎖剤、カフェイン、タンニン、ベラパミル、トラネキサム酸およびその誘導体、甘草抽出物、グラブリジン、カリンの果実の熱水抽出物、各種生薬、酢酸トコフェロール、グリチルリチン酸およびその誘導体またはその塩等の薬剤、ビタミンC、アスコルビン酸リン酸マグネシウム、アスコルビン酸グルコシド、アルブチン、コウジ酸等の美白剤、グルコース、フルクトース、マンノース、

シヨ糖、トレハロース等の糖類なども適宜配合することができる。

【0014】本発明のプロテアーゼ阻害剤は、例えば軟膏、クリーム、乳液、ローション、パック、浴用剤等、従来皮膚外用剤に用いるものであればいずれの形で適用することもでき、剤型は特に問わない。

【0015】

【実施例】以下に実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。なお、本発明はこれにより限定されるものではない。配合量は重量%である。実施例に先立ち、本発明のウルソール酸のプロテアーゼ阻害活性に関する試験方法およびその結果について説明する。代表的な2種類のセリンプロテアーゼとして、プラスミンとトリプシンに対する阻害活性を評価した。

【0016】1. 試料の調製

東京化成工業株式会社のウルソール酸 (Ursolic acid) をエタノールに1%溶かし、この溶液を希釈して濃度を調整し、これを用いて以下の実験を行った。

【0017】2. プラスミン阻害活性の測定

フィブリン平板法にて阻害率 (%) を求めた。すなわち Astrupら (Arch. Biochem. ;40, 346, 1952) の方法にならぬフィブリン平板を作成し、上記のように調製した試料を0.1%と0.01%にまでエタノールにて希釈して使用した。結果を表1に示した。

【0018】3. トリプシン阻害活性の測定

カゼインを基質とした Muramatsuら (J. Biochem. ;58, 214, 1965) の方法にならぬ阻害率を求めた。試料は同じく0.1%と0.01%にまで希釈したものを使用し、結果を表1に示した。

【0019】

【表1】

	試料添加濃度 (%)	阻害率 (%)	
		プラスミン	トリプシン
ウルソール酸	0.1	36.8	35.1
	0.01	15.0	16.3

【0020】表1から分かるように、ウルソール酸は、顕著なプロテアーゼ阻害効果が認められた。

【0021】実施例1 クリーム

(処方)	重量%
ステアリン酸	5.0
ステアリルアルコール	4.0
イソプロピルミリステート	18.0
グリセリンモノステアリン酸エステル	3.0
プロピレングリコール	10.0
ウルソール酸	0.01

苛性カリ 0.2
 亜硫酸水素ナトリウム 0.01
 防腐剤 適量
 香料 適量
 イオン交換水 残余
 (製法) イオン交換水にプロピレングリコールとウルソール酸と苛性カリを加え溶解し、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を徐々に加え、全部加え終わってからしばらくその温度に保ち反応を起こさせる。その

後、ホモキサーで均一に乳化し、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0022】

実施例2 クリーム

(処方)	重量%
ステアリン酸	2.0
ステアリルアルコール	7.0
水添ラノリン	2.0
スクワラン	5.0
2-オクチルドデシルアルコール	6.0
ポリオキシエチレン(25モル)	
セチルアルコールエーテル	3.0
グリセリンモノステアリン酸エステル	2.0
プロピレングリコール	5.0
ウルソール酸	0.05
亜硫酸水素ナトリウム	0.03
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にプロピレングリコールを加え、

実施例3 クリーム

(処方)	重量%
固形パラフィン	5.0
ミツロウ	10.0
ワセリン	15.0
流動パラフィン	41.0
グリセリンモノステアリン酸エステル	2.0
ポリオキシエチレン(20モル)	
ソルビタンモノラウリル酸エステル	2.0
石けん粉末	0.1
硼砂	0.2
ウルソール酸	0.1
亜硫酸水素ナトリウム	0.03
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水に石けん粉末と硼砂を加え、加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相をかきまぜなが

実施例4 乳液

(処方)	重量%
ステアリン酸	2.5
セチルアルコール	1.5
ワセリン	5.0
流動パラフィン	10.0
ポリオキシエチレン(10モル)	
モノオレイン酸エステル	2.0
ポリエチレングリコール1500	3.0
トリエタノールアミン	1.0
カルボキシビニルポリマー	0.05

加熱して70℃に保つ(水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ(油相)。水相に油相を加え予備乳化を行い、ホモキサーで均一に乳化した後、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0023】

ら徐々に加え反応を行う。その後、ホモキサーで均一に乳化し、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0024】

(商品名 : カーボポール941, B. F. Goodrich Chemical company)

ウルソール酸	0.01
亜硫酸水素ナトリウム	0.01
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) 少量のイオン交換水にカルボキシビニルポリマーを溶解する (A相)。残りのイオン交換水にポリエチレングリコール1500とトリエタノールアミンを加え、加熱溶解した70℃に保つ (水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ (油相)。水相に油相を加え予備乳化を行い、A相を加えホモミキサーで均一に乳化し、乳化後よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0025】実施例5 乳液

(処方)	重量%
マイクロクリスタリンワックス	1.0
ミツロウ	2.0
ラノリン	20.0
流動パラフィン	10.0
スクワラン	5.0

実施例6 ゼリー

(処方)	重量%
95%エチルアルコール	10.0
ジプロピレングリコール	15.0
ポリオキシエチレン (50モル)	
オレイルアルコールエーテル	2.0
カルボキシビニルポリマー	1.0
(商品名 : カーボポール940, B. F. Goodrich Chemical company)	
苛性ソーダ	0.15
L-アルギニン	0.1
ウルソール酸	7.0
2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン	
スルホン酸ナトリウム	0.05
エチレンジアミンテトラアセテート・3ナトリウム・2水	0.05
メチルパラベン	0.2
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にカーボポール940を均一に溶解し、一方、95%エタノールにウルソール酸、ポリオキシエチレン (50モル) オレイルアルコールエーテルを溶解し、水相に添加する。次いで、その他の成分を加

ソルビタンセスキオレイン酸エステル	4.0
ポリオキシエチレン (20モル)	
ソルビタンモノオレイン酸エステル	1.0
プロピレングリコール	7.0
ウルソール酸塩	10.0
亜硫酸水素ナトリウム	0.01
エチルパラベン	0.3
香料	適量
イオン交換水	残余

(製法) イオン交換水にプロピレングリコールを加え、加熱して70℃に保つ (水相)。他の成分を混合し加熱融解して70℃に保つ (油相)。油相をかきまぜながら水相を徐々に加え、ホモミキサーで均一に乳化した後、よくかきまぜながら30℃まで冷却する。

【0026】

えた後苛性ソーダ、L-アルギニンで中和させ増粘する。

【0027】

実施例7 美容液

(処方)	重量%
(A相)	
エチルアルコール (95%)	10.0
ポリオキシエチレン (20モル) オクチルドデカノール	1.0
パントテニールエチルエーテル	0.1
ウルソール酸	1.5
メチルパラベン	0.15

(B相)

水酸化カリウム	0.1
---------	-----

(C相)

グリセリン	5.0
ジブロピレングリコール	10.0
亜硫酸水素ナトリウム	0.03
カルボキシビニルポリマー	0.2

(商品名: カーボポール940, B.F. Goodrich Chemical company)

精製水

残余

(製法) A相、C相をそれぞれ均一に溶解し、C相にA相を加えて可溶化する。次いでB相を加えたのち充填を行う。

たのち充填を行う。

【0028】実施例8 パック

(処方)	重量%
(A相)	
ジブロピレングリコール	5.0
ポリオキシエチレン (60モル) 硬化ヒマシ油	5.0
(B相)	
ウルソール酸塩	0.01
オリーブ油	5.0
酢酸トコフェロール	0.2
エチルパラベン	0.2
香料	0.2
(C相)	
亜硫酸水素ナトリウム	0.03
ポリビニルアルコール	13.0
(ケン化度90、重合度2,000)	
エタノール	7.0
精製水	残余

(製法) A相、B相、C相をそれぞれ均一に溶解し、A相にB相を加えて可溶化する。次いでこれをC相に加え

【0029】実施例9 固形ファンデーション

(処方)	重量%
タルク	43.1
カオリン	15.0
セリサイト	10.0
亜鉛華	7.0
二酸化チタン	3.8
黄色酸化鉄	2.9
黒色酸化鉄	0.2
スクワラン	8.0
イソステアリン酸	4.0
モノオレイン酸POEソルビタン	3.0
オクタン酸イソセチル	2.0
ウルソール酸	1.0
防腐剤	適量
香料	適量

(製法) タルク~黒色酸化鉄の粉末成分をブレンダーで十分混合し、これにスクワラン~オクタン酸イソセチルの油性成分、ウルソール酸、防腐剤、香料を加え良く混練した後、容器に充填、成型する。

【0030】

実施例10 乳化型ファンデーション (クリームタイプ)

(処方) 重量%

(粉体部)

二酸化チタン	10.3
セリサイト	5.4
カオリン	3.0
黄色酸化鉄	0.8
ベンガラ	0.3
黒色酸化鉄	0.2

(油相)

デカメチルシクロペンタシロキサン	11.5
流動パラフィン	4.5
ポリオキシエチレン変性ジメチルポリシロキサン	4.0

(水相)

精製水	50.0
1,3-ブチレングリコール	4.5
ウルソール酸	1.5
ソルビタンセスキオレイン酸エステル	3.0
防腐剤	適量

香料

(製法) 水相を加熱攪拌後、十分に混合粉碎した粉体部を添加してホモミキサー処理する。更に加熱混合した油相を加えてホモミキサー処理した後、攪拌しながら香料を添加して室温まで冷却する。

【0031】

適量

【発明の効果】以上説明したように、本発明のプロテアーゼ阻害剤は、優れたプロテアーゼ阻害作用を有しており、種々の皮膚疾患、肌荒れ、荒れ性等の改善に優れた効果を有するものである。